

有機化合物の立体化学(34) : コンドロイチン硫酸C ナトリウム-色素複合体における誘起コットン効果

著者	西田 洋子, 薩摩林 紘子
雑誌名	日本歯科大学紀要. 一般教育系
巻	28
ページ	61-68
発行年	1999-03-20
URL	http://doi.org/10.14983/00000501



有機化合物の立体化学 XXXIV¹⁾

コンドロイチン硫酸Cナトリウム—色素複合体における誘起コットン効果

Stereochemistry of Organic Compounds XXXIV

Induced Cotton Effects of Sodium Chondroitin Sulfate C—dye Complex

新潟歯学部 西 田 洋 子

薩摩林 紘 子

Yoko NISHIDA and Koko SATSUMABAYASHI

The Nippon Dental University, School of Dentistry at Niigata,
Hamaura-cho, Niigata 951-8580, JAPAN

(1998年11月27日 受理)

著者らは、ある種の多糖が水溶液中で規則的な構造をとり、その構造が多糖—色素複体の誘起コットン効果によって確かめられることを報告してきた²⁻¹²⁾。その結果、多糖側では構成糖、結合状態、置換基等の相違が誘起コットン効果に大きく影響を及ぼすこと、また、溶液側ではpH、濃度、添加塩の種類が複合体のコンホメーションに変化を与え、誘起コットン効果に影響することが判った。とくに、添加塩に含まれる金属イオンの相違は立体構造に大きな影響を及ぼす。

本研究ではさらなる情報を得るため、多糖としてコンドロイチン硫酸Cのナトリウム塩、色素としてアクリジンオレンジ (AO) を用い、同様の研究を行った。コンドロイチン硫酸Cは、 β (1 \rightarrow 3) 結合したD—グルクロン酸とN—アセチルガラクトサミンの二糖単位が β (1 \rightarrow 4) 結合により縮重合した酸性ムコ多糖であり、N—アセチルガラクトサミンのC₆位に硫酸基を持ち、前報で報告したコンドロイチン硫酸Aとは硫酸基の位置のみを異にする。その基本構造を図1に示す。

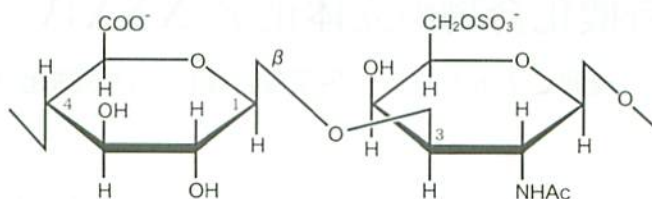


図1 コンドロイチン硫酸Cの基本構造

固体状態のコンドロイチン硫酸CはX線回折により二糖単位三つごとに1回転のヘリックス構造をもつことが報告されている^{13,14)}。また、コンドロイチン硫酸Cは水溶液中で疎水性パッチが規則的に分布したヘリックス型高次構造をとり、二糖単位二つごとに1回転のヘリックス構造をとることが報告されている¹⁵⁾。

実 験

コンドロイチン硫酸Cナトリウム (平均分子量 2.5×10^4)、AO 共に和光純薬工業製を用い、円偏光二色性 (CD)、旋光分散 (RD) および紫外吸収 (UV) スペクトルを測定した。CD、RD は JASCO Model RD/UV-5、UV は Hitachi Model 320 Spectrometer を、pH は Beckman PHI 32 meter を用いて測定した。測定温度は 25°C である。濃度はコンドロイチン硫酸Cナトリウム 0.1 gdm^{-3} および 1 gdm^{-3} 、AO 0.1 gdm^{-3} である。また、酸として HCl、 H_2SO_4 、アルカリとして NaOH を用いた。酸およびアルカリの濃度は HCl 0.01 moldm^{-3} 、 H_2SO_4 0.005 moldm^{-3} 、NaOH 0.01 moldm^{-3} である。また、添加金属塩として $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ を用いた。添加金属塩濃度は 0.001 および 0.01 moldm^{-3} である。

尚、CD、RD は平均残基楕円率 $[\theta]$ および平均残基旋光度 $[M]$ で表した。

結 果・考 察

コンドロイチン硫酸Cナトリウム-AO 複合体 ($P/D=10$) の CD、RD、UV スペクトルを図2に示す。 460 nm に -695° 、 430 nm に $+548^\circ$ の CD band が観測される。UV スペクトルによって、 460 nm の CD band が誘起コットン効果に基づくものであることが判る。誘起コットン効果の符号が負であることから、水溶液中では右巻きヘリックス構造をとる

ものと推定され、前報で報告したコンドロイチン硫酸Aナトリウムと同様の結果を示した。

図3に、コンドロイチン硫酸Cナトリウム-AO複合体の色素の混合比を変えた場合のCDスペクトルを示す。AOの割合の増加と共に460 nm 辺の誘起コットン効果に基づくCD band への寄与は大きくなり、AOがヘリックス形成に関与していることが判る。

図4にコンドロイチン硫酸Cナトリウム-AO複合体の酸およびアルカリによるCDスペクトルへの寄与を示す。濃度はHCl 0.01 mol dm^{-3} , H_2SO_4 $0.005 \text{ mol dm}^{-3}$, NaOH 0.01 mol dm^{-3} である。HCl (pH=1.24), H_2SO_4 (pH=1.34) 酸性溶液中では、水溶液と同様なCDスペクトルを示すが、10 nm 程長波長側にシフトしている。これは、酸性溶液中では COO^- イオンの解離が抑制され、ヘリックスの形成に影響を与えた結果と考えられる。NaOH (pH=9.58) アルカリ性溶液中では、値は小さいが中性溶液とほぼ同様のCDスペクトルを与える。

次に、金属イオンによるコンドロイチン硫酸Cナトリウム-AO複合体のコンホメーションへの影響を調べた。添加塩としては、マグネシウム・カルシウム・ストロンチウム・マンガン・ニッケル・銅・コバルトの硝酸塩を用いた。金属イオン濃度は0.001 および 0.01 mol dm^{-3} に調整した。これらのCDスペクトルを図5-11に示す。

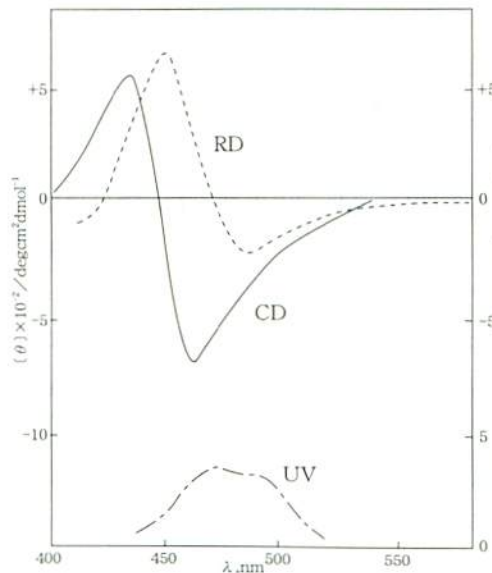


図2 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のRD, CDおよびUVスペクトル (H_2O , P/D=10, 25°C)

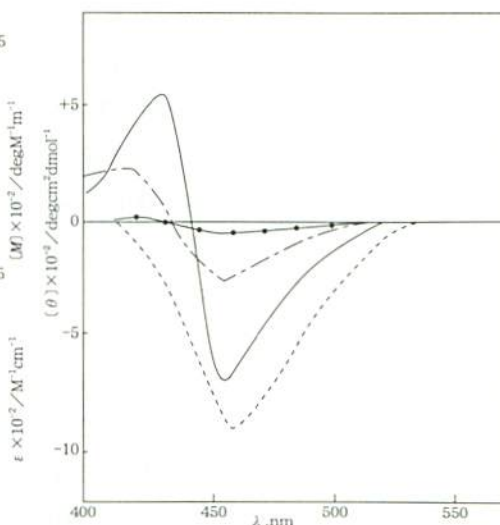


図3 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (H_2O , P/D=5, — P/D=10, --- P/D=20, ●—● P/D=100, 25°C)

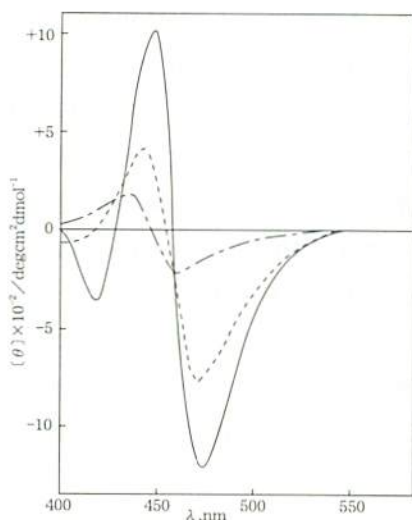


図4 コンドロイチン硫酸C—色素複合体のCDスペクトル (·····—0.01MHCl, ———0.005MH₂SO₄, - - -0.01MNaOH, P/D=10, 25°C)

図5に示される通り, $\text{Mg}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では, 510, 475, 460 nmに負の, 425 nmに正のpeakを示す。460 nmの負のpeakが最も大きいことから, 無添加塩水溶液中のコンホメーションは不安定だが一部保たれていると考えられる。また, $\text{Mg}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では, 467 nmに $+1930^\circ$ のpeakを示し, 無添加塩水溶液中とは反対符号のコットン効果が観測された。このことから, Mg^{2+} の添加により無添加塩水溶液中の基本構造は破壊され, コンホメーションの変化が示唆される。

図6は Ca^{2+} 中のCDスペクトルである。 $\text{Ca}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中のコットン効果は負, 次いで正となり, 無添加塩水溶液中と同様の傾向を示す。また, $\text{Ca}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では, 467 nmに $+1920^\circ$ のpeakを示し, $\text{Mg}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ の場合とほぼ等しいコットン効果が観測されていることから, Mg^{2+} の場合と同様なコンホメーション変化が生じていることが判る。すなわち, 0.01 mol dm^{-3} 程度の Mg^{2+} , Ca^{2+} の存在によって無添加塩水溶液中と逆向きのヘリックスが安定することを示す。

図7に示されるように Sr^{2+} 溶液中では, 濃度 $0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中で510 nm辺に負, 470 nm辺に負, 420 nm辺に正のCD bandを与える。濃度 0.01 mol dm^{-3} の場合は500 nmに負, 460 nmに正のCD bandを示し, 無添加塩水溶液中のCD bandが長波長シフトしていると考えられる。従って, Sr^{2+} 溶液中では部分的に不規則な構造をとるものの無添加塩水溶液中の規則構造は保持される。

図8に Mn^{2+} 溶液中のCDスペクトルを示す。 $\text{Mn}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では, 510に負の,

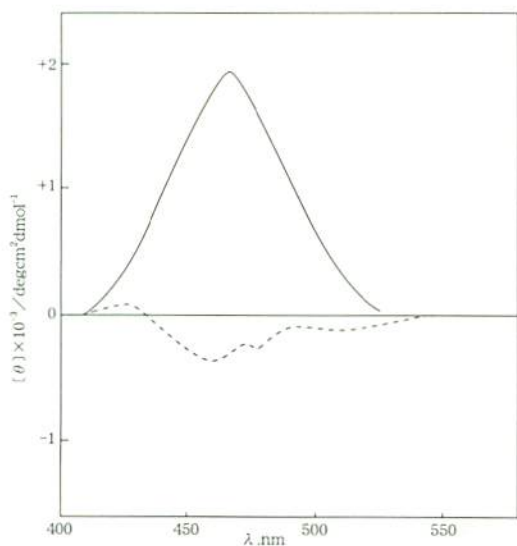


図5 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Mg}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Mg}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, $P/D=20$, 25°C)

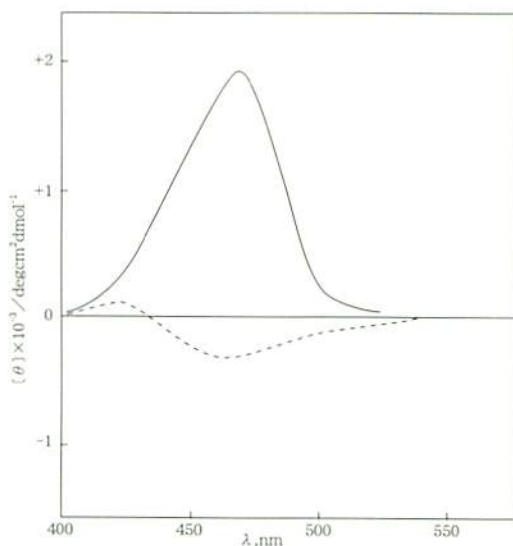


図6 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Ca}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Ca}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, $P/D=20$, 25°C)

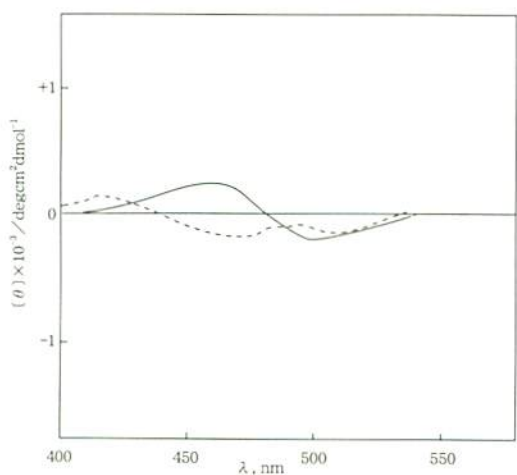


図7 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Sr}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Sr}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, $P/D=20$, 25°C)

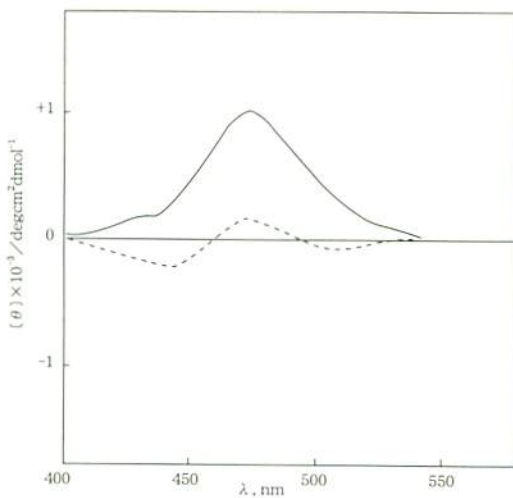


図8 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Mn}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Mn}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, $P/D=20$, 25°C)

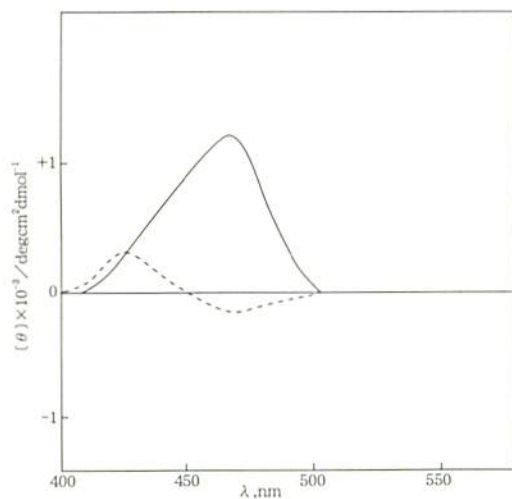


図9 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Ni}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Ni}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, P/D=20, 25°C)

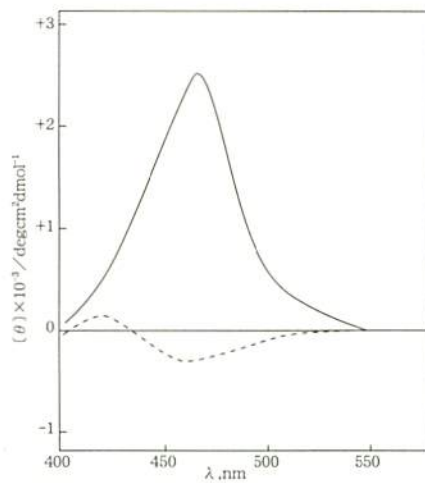


図10 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Cu}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Cu}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, P/D=20, 25°C)

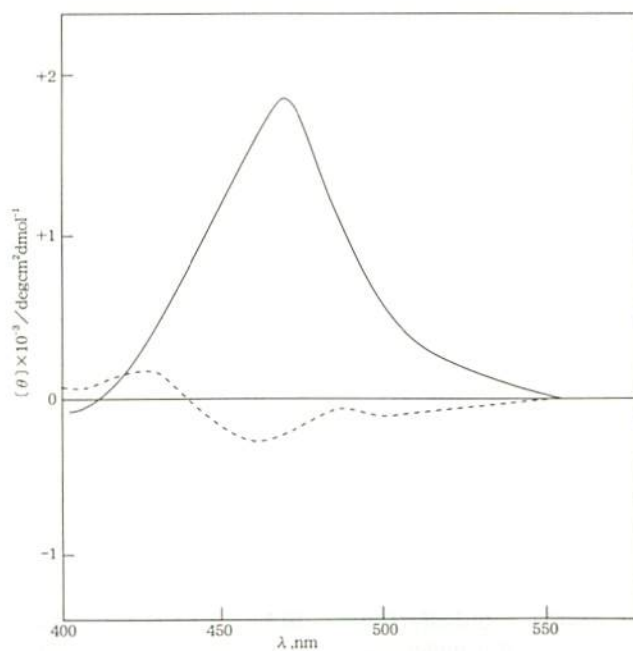


図11 コンドロイチン硫酸C-色素複合体のCDスペクトル (—— $\text{Co}^{2+} 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{Co}^{2+} 0.001 \text{ mol dm}^{-3}$, P/D=20, 25°C)

470 に正の, 440 nm に負の CD band が観測される。また, 0.01 mol dm^{-3} 中では, 472 nm に $+1010^\circ$ の正のコットン効果が観測される。これより, Mn^{2+} 溶液中では無添加塩水溶液中とはかなり異なったコンホメーションをとることが判る。

図 9 に Ni^{2+} 溶液中の CD スペクトルを示す。 $0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中での CD band は, 負, 正と無添加塩水溶液中と同様な旋光寄与を示し, 規則構造は保持されるが, 0.01 mol dm^{-3} 中では 467 nm に $+1220^\circ$ の正のコットン効果が観測され, 無添加塩水溶液中と逆向きヘリックスの安定性が確認された。

図 10 に Cu^{2+} 溶液中の CD スペクトルを示す。 $0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中での CD band は, 負, 正と無添加塩水溶液中と同様な旋光寄与を示し, 規則構造は保持されるが, 0.01 mol dm^{-3} 中では 467 nm に $+2500^\circ$ の大きな正のコットン効果が観測され, 安定した左巻きヘリックス構造をとることが判る。

図 11 に見られるように Co^{2+} 溶液中の CD スペクトルは Mg^{2+} 溶液中に類似した寄与を与える。 $0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では, 510 と 460 nm 辺に負の, 430 nm 辺に正の peak が観測される。また, $0.001 \text{ mol dm}^{-3}$ 中では 468 nm に $+1870^\circ$ の正の peak が観測され, コンホメーションの変化が確かめられた。

以上のことから, コンドロイチン硫酸 C ナトリウム-AO 複合体は, 無添加塩水溶液中ではコンドロイチン硫酸 A ナトリウム-AO 複合体と同様なコンホメーションを有するが, 金属イオンに対しては異なった作用をもち, Sr^{2+} 溶液中の場合を除き, 測定したすべての金属イオン溶液中, 0.01 mol dm^{-3} 程度のイオン濃度で無添加塩水溶液とは異なったコンホメーションをとることが判った。

文 献

- 1) K. Satsumabayashi, Y. Nishida and K. Tanemura, *This Bulletin*, **28**, 51 (1999)
- 2) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **17**, 101 (1988)
- 3) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **18**, 65 (1989)
- 4) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **19**, 95 (1990)
- 5) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **20**, 53 (1991)
- 6) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **21**, 77 (1992)
- 7) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **22**, 75 (1993)
- 8) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **23**, 74 (1994)
- 9) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **24**, 109 (1995)

- 10) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **25**, 55 (1996)
- 11) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **26**, 59 (1997)
- 12) Y. Nishida and K. Satsumabayashi, *ibid.*, **27**, 67 (1998)
- 13) E. D. T. Atkins, R. Gaussen, D. H. Issac, V. Nandanwar and J. K. Sheehan, *Polymer Sci.*, **10**, 863 (1972)
- 14) S. Arnott, J. M. Guss, D. W. L. Hukins and M. B. Mathews, *Science*, **180**, 743 (1973)
- 15) J. E. Scott, *Biochem. J.*, **275**, 267 (1991)